ژنتیک نوین
دوره دوازدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۶
صفحه ۱۳۲ - ۱۲۳

بهینه سازی و تلفیق الگوریتم‌های k-means و PSO جهت بازسازی هاپلوتیپ‌ها با استفاده از اطلاعات نشانگرهای SNP

Optimizing and integrating K-means and PSO algorithms for haplotype reconstruction using SNP maker information

مصطفی قادری‌زفره‌ایی*[۱]، صمد شریفی[۲]، ماشاءا... عباسی دزفولی[۲]، احسان عسگریان[۳]، محمدحسین بناء بازی[٤]

۱- استادیار زیست سامانه‌های محاسباتی، دانشگاه یاسوج، ایران
۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استادیار، علوم رایانه، دانشگاه آزاد اسلامی اهواز
۳- دانشجوی دکتری رایانه، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران
٤- استادیار، ژنتیک و اصلاح نژاد دام، بخش بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور،سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

Ghaderi Zefrhei M*[1], Sharifi S[2], Abbassi Dezfouli M[2], Asgarian E[3], Banabazi MH[4]

1- Assistant Professor in Computational Systems Biology, University of Yasouj, Yasouj, Iran
2- Graduate MSc Student, Assistant Professor, Computer Science, Islamic Azad University of Ahwaz, Ahwaz, Iran
3- PhD candidate in Computer Science, Ferdowsi University oh Mashhad, Mashahd, Iran
4- Research Assistant, Department of Biotechnology, Animal Science Research Institute of IRAN (ASRI), Agricultural Research, Education & Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mghaderi@yu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۲٤ - تاریخ پذیرش: ۹۵/٦/۲۸)

چکیده

بازسازی هاپلوتیپ یکی از موضوعات مهم در مطالعات ژنتیکی و بیوانفورماتیکی است. تشکیل هاپلوتیپ‌ها به‌صورت مستقیم با استفاده از روش‌های زیستی و آزمایشگاهی بسیار دشوار و پرهزینه است. از این‌رو، بازسازی هاپلوتیپ‌ها معمولا با استفاده از روش‌های محاسباتی بر روی اطلاعات ژنوتیپی و نشانگرهای ژنتیکی انجام می‌شود. در این مقاله، دو الگوریتم بر اساس مدل حداقل تصحیح خطا برای بازسازی هاپلوتیپ‌ها از روی ژنوتیپ افراد برای چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) ارایه می‌شود. الگوریتم اول حالتی از الگوریتم K-Meansاست با این تفاوت که این الگوریتم بجای استفاده از مراکز اولیه تصادفی، این مراکز را با شرایط ویژه انتخاب می‌کند. الگوریتم دوم نیز ترکیبی از الگوریتم PSO بهبودیافته و K-Means است که IPSOKM نام‌گذاری شد. الگوریتم‌های بهینه‌سازی شده بر روی داده‌های شبیه سازی شده و واقعی به کار گرفته شدند. نتایج نشان داد که دقت بازسازی هاپلوتیپ‌ها با استفاده از الگوریتم‌های ارایه شده در مقایسه با برخی از الگوریتم‌های مرسوم استفاده شده جهت بازسازی هاپلوتیپ‌ها، به‌خصوص در حالت‌های وجود خطا و حفره، به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. از این‌رو، این الگوریتم‌ها می‌توانند به‌طور مؤثری در مطالعات ژنتیک انسانی و به‌نژادی گیاه و دام به‌کار گرفته شوند.

واژه‌های کلیدی

الگوریتم
بازسازی هاپلوتیپ
قطعات SNP
IPSOKM
K-Means

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.13.3]

مقدمه

با پیشرفت علم زیست‌شناسی و توانایی بشر در تعیین توالی DNA، زمینه برای به‌دست آوردن منشا بسیاری از بیماری‌های ژنتیکی بوجود آمده است. از طرفی دیگر کاربرد داده‌های متکی بر DNA در بهبود و اصلاح نژاد گیاهان و حیوانات، به یک واقعیت روز تبدیل شده‌است. یکی از مهم‌ترین داده‌های متکی بر DNA که هم در پزشکی انسانی و هم در اصلاح نژاد حیوانات و گیاهان جایگاه ویژه‌ای برای خود باز کرده، نشانگرهای مبتنی بر چند شکلی های تک نوکلئوئیدی[1] یا SNP می‌باشد. در صورتی که فراوانی اللی مبنای کدگذاری ژنوتیپ‌ها باشد، الل‌های این نشانگرها در موجودات دیپلوئید می‌تواند به یکی از سه حالت زیر باشد: ۱) هر دو الل از نوع بیشینه باشند که با صفر در ژنوتیپ مشخص می‌شود؛ ۲) هر دو الل از نوع کمینه باشند که با ۱ در ژنوتیپ مشخص می‌شود و ۳) یک الل بیشینه و دیگری کمینه باشد که این حالت با ۲ در ژنوتیپ مشخص می‌شود (Chakravarti 1998). جدول ۱ ژنوتیپ و هاپلوتیپ و محل SNPها را بر روی یک جفت کروموزوم نشان می‌دهد.

جدول ۱- نمایش SNPها، هاپلوتیپ‌ها و ژنوتیپ‌ها بر روی یک جفت کروموزوم (SNP ها بر روی کروموزوم با حروف بزرگ نشان داده شده‌اند).

کروموزوم ۱	ACGTAGAGAA…CAGACAT…GACTTCAC		
کروموزوم ۲	ACGTACAGAA…CAGACAT…GACATCAC		
هاپلوتیپ ۱	G	A	T
هاپلوتیپ ۲	C	A	A
ژنوتیپ	G/C	A/A	T/A

اگر فرض شود h_1 و h_2 دو هاپلوتیپ با طول n باشند، مجموع آن‌ها $g = h_1 \oplus h_2$ به‌عنوان ژنوتیپ درنظر گرفته می‌شود. رابطه هاپلوتیپ و ژنوتیپ به‌صورت الگوریتمی به صورت زیر نشان داده می‌شود:

$$g[i] = \begin{cases} h_1[i] & if\ h_1[i] = h_2[i] \\ 2 & otherwise \end{cases} \quad (i = 1,\ldots,n)$$

[1] Single Nucleotide Polymorphisms

چندین هاپلوتیپ کشف شده‌اند که بر باروری نژادهای مختلف گاو شیری از جمله هلشتاین، براون سویس و جرزی موثرند (Van Raden et al. 2011). علی‌رغم فراوانی معنی‌دار این هاپلوتیپ‌ها در جمعیت (٤/٥ تا ٢٥ درصد برای افراد ناقل)، این هاپلوتیپ‌ها به‌واسطه عدم وجود حالت هموزیگوت در جمعیت شناسایی شده‌اند. این امر نشان می‌دهد که هاپلوتیپ‌های هموزیگوت کشنده هستند. از این‌رو آزمون‌های هاپلوتیپی می‌تواند به اصلاح‌گران کمک نماید تا از آمیزش‌هایی که چنین نقایصی را انتقال می‌دهند، پرهیز نموده و فراوانی آن‌ها را در آینده کاهش دهند. یکی از دیگر کاربردهای مهم تعیین هاپلوتیپ در زمینه تجویز داروی مناسب برای افراد بیمار است. هر شخص بیمار با توجه به هاپلوتیپ خود ممکن است یک واکنش خاص نسبت به یک نوع دارو نشان دهد. مثلاً کسانی که به بیماری آسم مبتلا هستند هر کدام با توجه به هاپلوتیپ‌های خود نسبت به یک اسپری ویژه واکنش متفاوتی از خود نشان می‌دهند. بنابراین یک نوع داروی خاص برای تمام بیماران مفید نیست. به‌عنوان مثال، شکل ۱ اطلاعات مربوط به جایگاه‌های SNP، ژنوتیپ و هاپلوتیپ مربوط به شش فرد که سه نفر از آن‌ها مبتلا به سرطان ریه هستند را نشان می‌دهد. در این شکل الل‌های بیشینه با رنگ سیاه و الل‌های کمینه با رنگ خاکستری نشان داده شده‌اند. فرض کنید که افراد ٤، ٥ و٦ مبتلا به سرطان ریه هستند. حال با تحلیل کدام اطلاعات می‌توان سرطان را به‌راحتی تشخیص داد؟ با توجه به اطلاعات ارائه شده، واضح است که هیچ‌کدام از تک جایگاه‌های SNP، به‌طور مستقل توانایی تفکیک افراد بیمار و سالم را ندارند. برای مثال SNP شماره ۱ در فرد اول و ششم مشابه هم است در حالی‌که فرد اول سالم و فرد ششم بیمار می‌باشند. با استفاده از اطلاعات ژنوتیپی نیز امکان پیش‌بینی وجود سرطان فراهم نیست. برای مثال ژنوتیپ فرد سوم و ششم کاملاً مشابه هم می‌باشند؛ در حالی که یکی سالم و دیگری بیمار است. با استفاده از اطلاعات هاپلوتیپی مشخص می‌شود که همه افراد بیمار دارای هاپلوتیپی به‌صورت CTTCTA هستند پس می‌توان استدلال کرد در هر فردی که ترکیب الل‌های این SNPهای خاص در قالب هاپلوتیپی به‌صورت CTTCTA بروز نماید، استعداد ابتلا به بیماری سرطان ریه وجود دارد (Zhang and Rajapakse 2009).

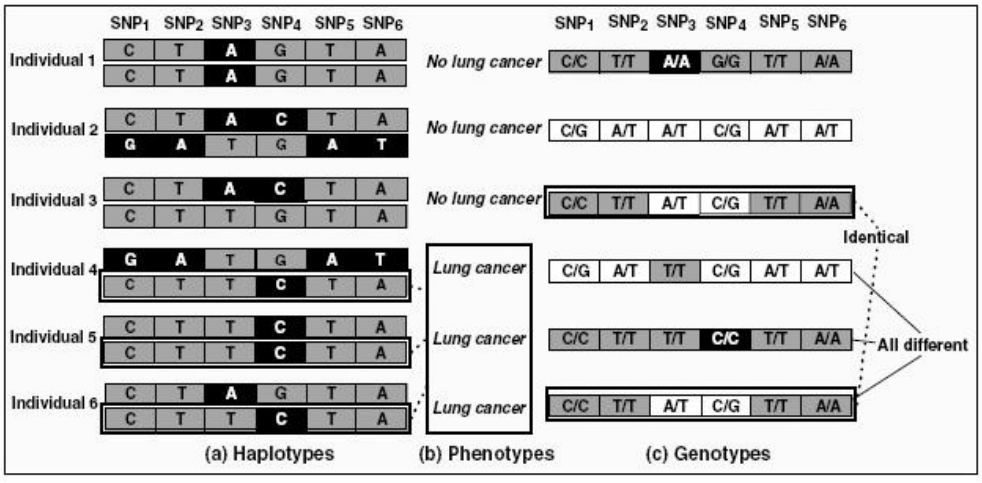
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.13.3]

به‌دلیل اهمیت فراوان تحلیل هاپلوتیپ‌ها در مطالعه بیماری‌های ژنتیکی، روش‌های تجربی زیادی برای استخراج اطلاعات هاپلوتیپی ابداع شده‌است. ولی علاوه بر هزینه بالا، این قبیل آزمایش‌ها بسیار زمان‌بر بوده و بازدهی پایینی دارند که جوابگوی تحلیل هاپلوتیپ در سطح و مقیاس بالا نیستند. روش‌های محاسباتی می‌توانند تا حد زیادی هزینه و زمان شناسایی هاپلوتیپ‌ها را کاهش دهند (Asgarian et al. 2007). تا کنون، دو روش محاسباتی برای استخراج اطلاعات هاپلوتیپی ارائه شده است (Gusfield 2001; Gusfield 2003; Bonizzoni et al. 2003;Wang et al. 2003; Zhang et al. 2006). در روش اول هاپلوتیپ‌ها از روی مجموعه‌ای از ژنوتیپ‌های یک جمعیت به‌دست می‌آیند. این روش را استنتاج هاپلوتیپ[1] می‌نامند. در روش دوم هاپلوتیپ‌های هر فرد از روی قطعات حامل SNP در آن فرد به‌دست می‌آید. این روش به بازسازی هاپلوتیپ از روی قطعات SNP[2] یا سرهم نمودن هاپلوتیپ[3] موسوم است. در این روش هدف اصلی، تصحیح و ادغام قطعه‌هایSNP روی‌هم افتاده[4] از یک کروموزوم، جهت تشکیل یک هاپلوتیپ کامل است (Zhao et al. 2007). علاوه بر این، به منظور کاهش مسائل محاسباتی در بازسازی هاپلوتیپ‌ها، همواره سعی بر این است که SNPهای حاوی اطلاعات بیشتر (برای تشخیص بیماری‌ها) انتخاب شوند. پیچیدگی مسائل محاسباتی در تحلیل هاپلوتیپ‌ها عمدتا از نوع NP-Hard و APX-Hard است (Clark 1990; Alimoti and Kann 1997; Patil et al. 2001; Bafna et al. 2003; Bafna et al. 2005).

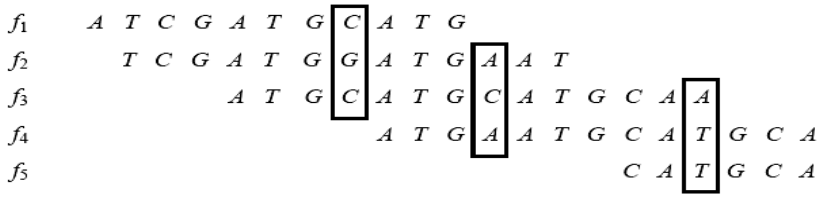
اولین گام در روش‌های بازسازی هاپلوتیپ از روی قطعات SNP تعیین توالی کروموزوم‌های یک فرد و تولید قطعات SNP آن فرد است. قطعات SNP به قطعه‌های کروموزومی گفته می‌شود که فقط شامل SNPهای موجود بر روی آن کروموزوم باشد. اشتباه در تعیین ژنوتیپ یک جایگاه را خطا[5] می‌گویند. برای مثال، ممکن است مقدار یک SNP به جای صفر، یک ثبت شود و برعکس. اگر ژنوتیپ یک فرد در یک تک SNP خوانده نشود، در نمایش قطعه به جای آن '-' گذاشته می‌شود و به آن ژنوتیپ نامشخص حفره می‌گویند.

[1] Haplotype Inferring
[2] Haplotype Reconstruction
[3] Haplotype Assembly
[4] Overlap

[5] Noise



شکل۱- نمایش شماتیک وضعیت تک جایگاه‌های SNP، ژنوتیپ و هاپلوتیپ در شش فرد در رابطه با زمینه ژنتیکی ابتلا به بیماری سرطان ریه (Zhang Y and Rajapakse J. 2009)



شکل ۲- قطعات SNP ترازبندی‌شده

وجود حفره‌ها در داخل یک قطعه ایجاد مشکل می‌کند. بر روی هر قطعه SNP (که از الفبای –، صفر، یک تشکیل شده‌است) مفهومی به نام شکاف[1] تعریف می‌شود. شکاف، یک یا چند حفره متوالی در داخل قطعه‌هاست بطوری‌که دو طرف آن مقادیر غیرحفره‌ای ("صفر"، یا "یک") قرار داشته باشد. برای مثال قطعه---01110- بدون شکاف است،---0-------1- فقط یک شکاف دارد و -01---101-1 دارای دو شکاف است. معمولاً مدل‌های مختلف برای بازسازی هاپلوتیپ‌ها از روی قطعات SNP، تنها در مواردی که قطعات SNP بدون شکاف و یا با یک شکاف باشند، به کار می‌روند. پس از تولید قطعات SNP آن‌ها را ترازبندی می‌کنند. فرض کنید قطعه‌های تولید شده و ترازبندی‌شده به‌صورت شکل ۲ باشد. در شکل ۲ عناصری که در کادر مشخص شده‌اند، SNP هستند. آن‌گاه بعد از جداسازی SNPها، ماتریس SNP به‌صورت زیر نمایش داده می‌شود:

$$S=\begin{bmatrix}1 & - & -\\ 0 & 1 & -\\ 1 & 0 & 1\\ - & 1 & 0\\ - & - & 0\end{bmatrix}$$

اگر فرض شود m قطعه SNP وجود دارد که از یک جفت کروموزوم گرفته شده‌اند و با دو هاپلوتیپ به طول n متناظر هستند، آنگاه، $S=[s_{ij}]_{m\times n}$ ماتریسی متشکل از قطعه‌های SNP است که هر عضو S_{ij} مقداری برابر "صفر"، (اگر الل jام SNP در قطعه i بیشینه باشد)، "۱" (اگر کمینه باشد) یا "-" (اگر حفره باشد) دارد. هر سطر ماتریس S(s_i)، متناظر با یک قطعه SNP به‌دست آمده از روی یک کروموزوم است و هر ستون آن (s_j)، متناظر با یک جایگاه SNP است. طول همه قطعه‌های SNP به همراه حفره‌های موجود در آن‌ها، با طول هاپلوتیپ آن‌ها برابر است (s_i). حال با فرض این‌که $x,y\in\{0,1,-\}$ دو SNP باشند، یک معیار برای شباهت و فاصله دو قطعه SNP می‌تواند به‌صورت ذیل باشد: $d(x,y)=\begin{cases}1 & (x\neq y\neq'-')\\ 0 & otherwise\end{cases}$ پس فاصله دو قطعه SNP و یک هاپلوتیپ نیز به‌همین صورت محاسبه می‌شود.

شباهت و یا فاصله برای دو قطعه SNP به نام‌های S_i و S_k از رابطه $D(S_i,S_k)=\sum_{j=1}^{n}d(S_{ij},S_{kj})$ به‌دست می‌آید. فاصله بین یک قطعه SNP و یک هاپلوتیپ نیز به‌همین صورت محاسبه می‌شود. دو قطعه SNP به نام‌های S_i و S_k با هم ناسازگارند اگر $D(S_i,S_k)>0$ باشد. در غیر این‌صورت گفته می‌شود که دو قطعه سازگار هستند. بنابراین یک هاپلوتیپ بازسازی شده از روی قطعات SNP را می‌توان مجموعه از قطعه‌های SNP ناسازگار (که از روی یک جفت کروموزوم به‌دست آمده‌اند) دانست. در این مطالعه، هدف، پیدا نمودن و تصحیح خطای درون داده‌ها در طی فرآیند بازسازی هاپلوتیپ از روی قطعات SNP است تا بتوان یک زوج هاپلوتیپ با بیشینه سازگاری را از روی قطعه‌های SNP تصحیح شده به‌دست آورد. در مسأله بازسازی هاپلوتیپ، هدف، پیدا نمودن بهترین جفت هاپلوتیپی است که کمترین میزان تضاد را با قطعه‌های SNP داده شده داشته باشد.

مدل‌های مبتنی بر حذف قطعه خطا شامل موارد ذیل می‌باشند:
(الف) مدل حذف حداقل قطعه[2] (MFR): این مدل فرض می‌کند که قطعه‌های "بد" باعث ایجاد خطا می‌شوند (این‌ها قطعاتی از سایر ارگانیسم‌ها هستند که به اشتباه وارد مسأله شده‌اند). بنابراین، MFR سعی می‌نماید این قطعه‌های بد را حذف کند. در صورتی-

[1] Gap

[2] Minimum Fragment Removal

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.13.3]

که ماتریس SNP بدون شکاف باشد مدل MFR دارای حل چندجمله‌ای است (Lancia et al. 2001). اما این مدل برای ماتریس SNP که قطعه‌های آن دارای شکاف هستند NP-hard است (Bafna et al. 2005).

(ب) مدل بازسازی بزرگترین هاپلوتیپ[1] (LHR): منظور از LHR حذف مجموعه‌ای از قطعه‌هاست به‌صورتی‌که تشکیل ماتریس SNP امکان‌پذیر باشد و مجموع طول هاپلوتیپ‌های حاصل از ماتریس SNP بیشینه باشد. این مسأله در صورتی‌که قطعه‌های SNP بدون شکاف باشند، دارای یک الگوریتم چندجمله‌ای است. ولی در مورد قطعه‌های یک شکاف APX-hard است (Cilibrasi 2005).

(ج) مدل حذف حداقل SNP[2] (MSR): در این مدل فرض می‌شود که همه قطعه‌ها از یک ارگانیسم هستند اما در توالی‌یابی داده‌ها خطا وجود دارد. در واقع در ماتریس قطعات، یک یا چند SNP خطا وجود دارد. این فرض کمک می‌کند تا جایگاه‌های SNP مشکل‌ساز را حذف نموده و یک ماتریس از قطعات SNP سازگار بسازیم. MSR برای یک ماتریس SNP که هر قطعه SNP حداقل دو شکاف داشته باشد، مسأله‌ای NP-hard است. Lancia et al. (2001)، و Bafna et al. (2005) اثبات نمودند که مدل MSR مسأله‌ای APX-Hard است. پس برای این مدل الگوریتم تقریبی خوبی وجود ندارد.

(د) مدل حداقل تصحیح خطا (MEC[3] /MLF[4]): این مدل برای حالتی مناسب است که در خواندن الل هر SNP، احتمال رخداد اشتباه وجود دارد. پس باید درایه‌های ماتریسی که اشتباه هستند، تصحیح شوند تا ماتریس SNP بدون خطا شود. تفاوت اصلی این مدل با MSR بر سر تصحیح مقادیر SNP به جای حذف جایگاه‌های ناسازگار است. سعی بر این است که درایه‌های ماتریس SNP را طوری تغییر دهیم که ماتریس SNP بدون خطا شده و مجموع وزن تغییر یافته‌ها کمینه باشد. مدلMLF حتی با ماتریس SNP بدون شکاف مسأله‌ای NP-hard است (Zhao and Zhang 2005). مدل‌های قبلی به طور غیر مستقیم از گراف برخورد استفاده می‌کردند. ولی این مدل‌ها با استفاده از الگوریتم‌ها و نظریه گراف به‌صورت مستقیم از گراف برخورد، برای حل مسأله بازسازی هاپلوتیپ استفاده می‌کنند. Reed et al. (2004) و Hüffner (2005) الگوریتمی برای دوبخشی کردن گراف ارائه نمودند. الگوریتم آن‌ها کوچک‌ترین مجموعه از رئوس را که گراف برخورد آن‌ها دوبخشی باشد، پیدا نمود. علاوه بر استفاده از قطعه‌هایSNP، می‌توان از اطلاعات ژنوتیپ نیز استفاده کرد (Reed et al. 2004; Hüffner 2005). اطلاعات ژنوتیپ بسیار آسان‌تر و کم هزینه‌تر از هاپلوتیپ به‌دست می‌آیند. بر این اساس، چند روش ترکیبی ازجمله روش حداقل برخورد هاپلوتیپ[5] (MCIH) (Zhang 2006) و روش حداقل خطای تصحیح با استفاده از اطلاعات ژنوتیپ[6] (MEC-GI) (Asgarian et al. 2007) ابداع شده‌اند.

مواد و روش‌ها

الگوریتم K-Means بهبود یافته[7] (IKM)

هدف K-Means قرار دادن مجموعه‌ای از داده‌ها $X = \{x_1, x_2, \ldots, x_n\}$ در تعدادی خوشه است بطوری‌که داده‌های موجود در یک خوشه تا حد ممکن مشابه و داده‌های موجود در خوشه‌های متفاوت تا حد ممکن متمایز باشند. در خوشه‌بندی قطعه‌های SNP، ابتدای دو قطعه که بیش‌ترین فاصله را نسبت به هم دارند به‌عنوان مرکز خوشه‌ها در نظر گرفته می‌شوند. در مرحله بعد، براساس فاصله داده‌ها از مراکز تعیین شده، هر داده در یکی از خوشه‌ها قرار می‌گیرد. سپس مراکز داده‌های هر خوشه به کمک الگوریتم رأی‌گیری[8] محاسبه شده و دوباره با توجه به فاصله هر داده تا مرکز جدید، خوشه‌بندی تکرار می‌شود. این عمل تا زمانی که مرکز خوشه‌ها در دو بار تکرار الگوریتم تغییر نکند، ادامه خواهد یافت. Zhang et al. (2007) جزئیات بیش‌تر این روش را شرح داده‌اند. در مطالعه حاضر، از الگوریتم‌های خوشه‌بندی متفاوتی استفاده شد. اولین الگوریتم مورد استفاده برای این منظور را الگوریتم K-Means بهبود یافته (IKM) نام

[1] Longest Haplotype Reconstruction
[2] Minimum SNP Removal
[3] Minimum Error Correction
[4] Minimum Letter Flips
[5] Minimum Conflict Individual Haplotyping
[6] Minimum Error Correction with Genotype Inference
[7] Improved K-Means
[8] Voting algorithm

گذاری شد. در روش IKM ، K-Means غیرتصادفی است و از نتایج حاصل از ماتریس فاصله قطعات از همدیگر، برای انتخاب هوشمندانه نمونه‌های اولیه در الگوریتم K-Means استفاده شد. انتخاب نمونه‌های اولیه در الگوریتم K-Means در نتایج نهایی بسیار مؤثر است. بنابراین بهترین انتخاب برای نمونه‌های اولیه انتخاب نمونه‌هایی است که به خوشه‌های متفاوت تعلق داشته و تقریباً در مرکز خوشه‌ها باشند. با توجه به این دو ویژگی، می‌توان بهترین مراکزاولیه را برای الگوریتم پیدا نمود. به عبارت دیگر، برای پیدا کردن مراکز اولیه از دو اصل زیراستفاده شد: (۱) مراکز اولیه می‌بایست متعلق به خوشه‌های متفاوت باشند. بنابراین در ماتریس فاصله قطعات، این مراکز می‌بایست بیش‌ترین فاصله را از هم داشته باشند. (۲) بعد از آن‌که بر اساس اصل اول دو قطعه به عنوان مرکز مشخص شد، براساس نزدیکی قطعات به هر کدام از مراکز، خوشه‌ها را تشکیل می‌دهیم. آنگاه از روی یک حداقل آستانه برای سهم هر خوشه از کل قطعات که بر اساس تجربه تعیین می‌شود، خوشه هایی که این آستانه را تامین نکنند کنار گذاشته می‌شوند. اگر سهم یک خوشه کمتر از این آستانه باشد، این دو قطعه برای مرکز بودن مناسب نیستند زیرا یکی ازخوشه‌ها تراکم زیاد شده و دیگری تراکم خیلی کمتری دارد. سپس مجددا از روی ماتریس فاصله، دو قطعه ای را که فاصله زیادی از هم دارند را به عنوان مرکز انتخاب می‌کنیم (بیشینه دوم) و دوباره اصل دوم را تکرار می‌کنیم تا به هدف موردنظر، که تعیین مراکز اولیه برای الگوریتم K-Means است، دست یابیم.

الگوریتم خوشه‌بندی ترکیبی بهبود یافته IPSOKM دومین الگوریتم پیشنهادی سعی می‌کند با ترکیب الگوریتم‌های KMو PSO[1] با هم، از مزایای هر دو آن‌ها بهره‌مند شود. از این‌رو این الگوریتم خوشه‌بندی ترکیبی بهبود یافته، IPSOKM نام گذاری شد که ترکیبی از دو الگوریتم K-Means و PSO است. در واقع الگوریتم K-Means دیگر بطور تصادفی مرکز اولیه را انتخاب نمی‌کند بلکه به نوعی هوشمندانه عمل می‌کند و از بهترین نتیجه در الگوریتم IPSO به‌عنوان مرکز اولیه استفاده می‌شود. جدول ۲ این الگوریتم را نشان می‌دهد. در جدول ۲، w وزن اینرسی حرکتی در جهت بردار سرعت فعلی ذره و همچنین c_1 و c_2 ضرایب ثابت شتاب ذره هستند. برای درک بهتر این فراسنجه‌ها خواننده به الگوریتم روش بهینه‌سازی اجتماع ذرات (PSO) ارجاع داده می‌شود.

برای آزمون الگوریتم‌های پیشنهادی برای بازسازی هاپلوتیپ از روی قطعات SNP و بررسی کارایی و راندمان آن‌ها، از داده‌های زیستی واقعی و شبیه‌سازی شده موجود در چندین پایگاه داده شد. در مطالعه حاضر، داده‌های واقعی از پایگاه‌های ACE[2] و Daly و داده‌های شبیه‌سازی شده از پایگاه‌های SIM0 و SIM50 به‌دست آمدند.

[1] Particle Swarm [Optimization (PSO)
[2] Angiotensin Converting Enzyme

جدول ۲- شبه کد برای الگوریتم پیشنهادی ترکیبی IPSOKM

Input: SNP fragments	
Output: two haplotypes	
Step1: Set the population size N, w, c_1 and c_2.	
Step2: Initialize a population of size N.	
Step2: Select k pair fragment with maximum distance and maximum nigh to add the N.	
Step3: Set iterative count Gen1=0.	
Step4: Set iterative count Gen2 =0.	
Step5: ((PSO Method)	
Step5.1: Apply the PSO operator to update the N+k Particles.	Based upon PSO algorithm
Step5.2: Gen1=Gen1+1.if Gen1<8, go to Step 5.1.	
Step6: (KM Method) For P_g	
Step6.1: Recalculate P_g using the KM algorithm.	Based upon K-Means algorithm
Step6.2: Gen2=Gen2+1. If Gen2<4, go to step 6.1.	
Step6: based on voting algorithm, it is produced two haplotypes from current two clusters.	

جدول ۳- نرخ بازسازی الگوریتم‌های پیشنهادی با و بدون استفاده از اطلاعات ژنوتیپ بر روی پایگاه داده ACE و مقایسه با الگوریتم‌های K-Means، PAM، AGC و PSO

K-Means	PAM	AGC	PSO	(MEC) IKM	(MEC/GI) IKM	(MEC) IPSOKM	(MEC/GI) IPSOKM	نرخ خطا	نرخ حفره
0.998	0.998	0.948	0.99	0.994	1	0.999	1	0.1	0.25
0.952	0.938	0.941	0.924	0.94	1	0.9	0.997	0.2	
0.814	0.803	0.84	0.834	0.823	0.925	0.861	0.935	0.3	
0.65	0.675	0.669	0.662	0.683	0.834	0.816	0.86	0.4	
0.977	0.971	0.965	0.965	0.972	0.995	0.98	0.997	0.1	0.5
0.898	0.886	0.883	0.883	0.9	0.985	0.915	0.985	0.2	
0.756	0.76	0.754	0.752	0.76	0.884	0.836	0.896	0.3	
0.638	0.66	0.63	0.655	0.663	0.86	0.803	0.865	0.4	
0.885	0.898	0.893	0.883	0.925	0.958	0.928	0.983	0.1	0.75
0.733	0.72	0.758	0.774	0.75	0.899	0.793	0.882	0.2	
0.669	0.692	0.677	0.696	0.726	0.854	0.76	0.862	0.3	
0.628	0.619	0.605	0.635	0.645	0.828	0.717	0.842	0.4	

در همه پایگاه‌های داده موجود ۱۲ ترکیب متفاوت از نرخ حفره و خطا وجود دارد (نرخ‌های خطای ۰/۱، ۰/۲،۰/۳ و ۰/٤ و نرخ‌های حفره ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵). پیاده‌سازی برنامه تحلیل و بازسازی هاپلوتیپ‌ها (با امکان استفاده از اطلاعات ژنوتیپ)، به‌وسیله زبان برنامه‌نویسی Matlab2011a انجام شد. در نهایت، نتایج حاصل از الگوریتم‌های پیشنهادی با الگوریتم‌های K-Means (Zhang et al. 2007)، PAM[1] (Moeinzadeh et al. 2007)، خوشه‌بندی سلسله مراتبی یا جمع شونده[2] (AGC) (Asgarian et al. 2007) و PSO مقایسه شد.

نتایج و بحث

در الگوریتم ترکیبی بهبود یافته IPSOKM پیشنهادی تعداد افراد جمعیت ۵۰ و تعداد افرادی که به‌صورت هوشمندانه به جمعیت اضافه شد پنج در نظرگرفته شد. بقیه پارامترها به‌صورت $C_1=C_2=0.7$ و $w=0.8$ فرض شد. برای مقایسه با روش‌های مختلف دیگر، پارامترهای آن‌ها در بهترین حالت پیاده‌سازی شد. هم‌چنین برای دقت بیشتر هر الگوریتم چند بار اجرا و برای هر نرخ خطا هشت بار نرخ حفره تکرار شد. در نهایت، از همه نتایج میانگین گرفته شد که در جداول ۳ تا ٦ ارایه شده‌اند. این جداول، نتایج حاصل از آزمون الگوریتم‌های جدید پیشنهادی را بر روی داده‌های حاصل از پایگاه‌های داده ACE، SIM0، SIM50 و Daly با دو مدل حداقل تصحیح خطا و مدل حداقل تصحیح خطا با استفاده از اطلاعات ژنوتیپ نشان داده و با نتایج حاصل از چهار الگوریتم دیگر مقایسه می‌نمایند.

در مجموع، براساس جداول مذکور معلوم می‌شود که الگوریتم‌های پیشنهادی از عملکرد بسیار بهتری نسبت به الگوریتم‌های مشابه برخورد دار بوده‌اند. به عبارتی دقت بازسازی هاپلوتیپ با استفاده از الگوریتم‌های ارایه شده، بهتر از سایر الگوریتم‌های مورد مقایسه است.

در مطالعه حاضر، از پایگاه‌های داده‌ای شبیه‌سازی و واقعی استفاده شد. در پایگاه‌های داده‌ای شبیه‌سازی، داده‌ها براساس میزان شباهت دو هاپلوتیپ پدری و مادری شبیه‌سازی شده‌اند. به عبارت دیگر، این پایگاه‌های داده براساس درصد ژنوتیپ‌های هتروزیگوت تشکیل شده‌اند. به درصد شباهت بین یک جفت هاپلوتیپ (درصد ژنوتیپ های هتروزیگوت) نرخ شبیه‌سازی می‌گویند. برای مثال هیچ شباهتی بین دو هاپلوتیپ به‌دست آمده از قطعات SNP در پایگاه داده SIM0 وجود ندارد (در واقع، نرخ شبیه‌سازی در این پایگاه داده صفر است). بنابراین تمام جایگاه‌ها، ژنوتیپ هتروزیگوت دارند (ارزش عددی آن‌ها برابر"۲" است. این در حالی است که نیمی از مکان‌های دو هاپلوتیپ بدست آمده

[1] Partitioning Around Medoids
[2] Agglomerative

از قطعات SNP در پایگاه داده SIM50 به‌صورت تصادفی مشابه هم هستند. در مرحله بعد، ابتدا ۱۰ جفت هاپلوتیپ به طول ۵۲ جایگاه SNP و با توجه به فراسنجه نرخ شبیه‌سازی، به‌صورت تصادفی تولید می‌شوند. سپس از هر جفت هاپلوتیپ، ۱۲ نمونه کپی برداشته می‌شود و با توجه به نرخ‌های خطا و حفره مختلف، ۲۰ قطعه SNP در هر جفت هاپلوتیپ تولید می‌شوند. پس در کل ۱۲۰ نمونه با نرخ‌های خطا و حفره مختلف در این نوع پایگاه داده وجود دارد. در پایگاه داده واقعی ACE نیز برای هر نرخ خطا و حفره، ۸ نمونه (در کل ۹۶ نمونه برای تمام ترکیبات مختلف خطا و حفره) وجود دارد (Rieder 1999). در هر نمونه، ۲۰ قطعه SNP با طول ۵۲ جایگاه SNP و ژنوتیپ مربوط به جفت هاپلوتیپ نهایی وجود داشت.

جدول ٤- نرخ بازسازی الگوریتم‌های پیشنهادی با و بدون استفاده از اطلاعات ژنوتیپ بر روی پایگاه داده SIM0 و مقایسه با الگوریتم‌های K-Means، PAM، AGC و PSO

K-Means	PAM	AGC	PSO	(MEC) IKM	(MEC/GI) IKM	(MEC) IPSOKM	(MEC/GI) IPSOKM	نرخ خطا	نرخ حفره
0.996	0.996	0.996	0.981	0.99	0.999	0.993	0.999	0.1	0.25
0.965	0.965	0.965	0.937	0.938	0.952	0.939	0.972	0.2	
0.849	0.846	0.864	0.819	0.821	0.9	0.853	0.951	0.3	
0.618	0.601	0.607	0.576	0.652	0.805	0.719	0.862	0.4	
0.9884	0.989	0.989	0.955	0.981	0.99	0.986	0.995	0.1	0.5
0.919	0.916	0.911	0.861	0.912	0.95	0.926	0.986	0.2	
0.7524	0.752	0.701	0.754	0.775	0.81	0.793	0.864	0.3	
0.5556	0.58	0.587	0.569	0.638	0.75	0.709	0.793	0.4	
0.9022	0.885	0.913	0.851	0.901	0.935	0.921	0.941	0.1	0.75
0.6955	0.686	0.799	0.73	0.741	0.8	0.764	0.856	0.2	
0.6266	0.643	0.646	0.617	0.661	0.71	0.693	0.763	0.3	
0.5445	0.528	0.542	0.562	0.571	0.654	0.599	0.704	0.4	

جدول ٥- نرخ بازسازی الگوریتم‌های پیشنهادی با و بدون استفاده از اطلاعات ژنوتیپ بر روی پایگاه داده SIM50 و مقایسه با الگوریتم‌های K-Means، PAM، AGC و PSO

K-Means	PAM	AGC	PSO	(MEC) IKM	(MEC/GI) IKM	(MEC) IPSOKM	(MEC/GI) IPSOKM	نرخ خطا	نرخ حفره
0.999	0.999	0.999	0.991	0.999	1	1	1	0.1	0.25
0.952	0.938	0.96	0.94	0.938	0.992	0.957	0.996	0.2	
0.817	0.786	0.824	0.819	0.786	0.94	0.85	0.948	0.3	
0.651	0.654	0.622	0.663	0.654	0.806	0.739	0.828	0.4	
0.9778	0.975	0.977	0.964	0.978	0.998	0.983	1	0.1	0.5
0.91	0.884	0.884	0.904	0.882	0.963	0.905	0.976	0.2	
0.7673	0.75	0.75	0.782	0.751	0.864	0.821	0.914	0.3	
0.6395	0.642	0.642	0.621	0.638	0.814	0.699	0.816	0.4	
0.9066	0.88	0.88	0.873	0.905	952	0.923	989	0.1	0.75
0.7433	0.737	0.737	0.755	0.744	0.872	0.784	0.883	0.2	
0.6776	0.675	0.675	0.669	0.692	0.833	0.763	0.843	0.3	
0.6101	0.606	0.606	0.595	0.62	0.777	0.687	0.785	0.4	

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.1.13.3]

جدول ٦- نرخ بازسازی الگوریتم‌های پیشنهادی با و بدون استفاده از اطلاعات ژنوتیپ بر روی پایگاه داده Daly و مقایسه با الگوریتم‌های K-Means، PAM، AGC و PSO

K-Means	PAM	AGC	PSO	(MEC) IKM	(MEC/GI) IKM	(MEC) IPSOKM	(MEC/GI) IPSOKM	خطا	حفره
0.999	0.999	0.978	0.997	0.999	1	1	1	0.1	0.25
0.99	0.989	0.933	0.974	0.989	0.999	0.991	0.999	0.2	
0.928	0.902	0.836	0.897	0.901	0.984	0.942	0.993	0.3	
0.721	0.72	0.713	0.726	0.721	0.888	0.787	0.901	0.4	
0.997	0.996	0.982	0.985	0.996	0.999	0.998	0.999	0.1	0.5
0.971	0.961	0.939	0.945	0.96	0.993	0.975	0.998	0.2	
0.853	0.832	0.818	0.837	0.832	0.94	0.863	0.97	0.3	
0.693	0.7	0.685	0.695	0.7	0.882	0.751	0.884	0.4	
0.973	0.963	0.956	0.941	0.965	0.98	0.981	0.997	0.1	0.75
0.888	0.867	0.863	0.869	0.87	0.936	0.896	0.976	0.2	
0.762	0.766	0.752	0.764	0.769	0.891	0.803	0.913	0.3	
0.657	0.663	0.651	0.66	0.665	0.873	0.727	0.878	0.4	

Rieder (1999) توانست توالی ژن *DCP1* (که بر روی کروموزوم ۲۲ قرار دارد) را در ۱۱ فرد استخراج کند. علاوه بر آن ژنوتیپ‌هایی که بیش از یک جایگاه هتروزیگوت داشتند را کنار گذاشت. سپس از بقیه آن‌ها، ۸ جفت هاپلوتیپ استخراج نمود و از هر کدام از آن‌ها ۱۲ نمونه تهیه کرد. در نهایت، از هر نمونه ۲۰ SNP با فراسنجه‌های مختلف نرخ خطا (۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/٤) و نرخ حفره (۰/۲۵، ۰/۵ و۰/۷۵) ایجاد نمودند. در پایگاه داده واقعی Daly، برای هر نرخ خطا و حفره، ۱۲۸ نمونه (در مجموع، ۱۵۳٦ نمونه برای تمام حالت‌های خطا و حفره) موجود بود (Daly and Rioux 2001). در هر نمونه، ٤۰ قطعه SNP با طول ۸٦ یا ۹۸ جایگاه SNP و ژنوتیپ مربوط به جفت هاپلوتیپ نهایی، وجود داشت. Daly and Rioux (2001) تحلیل بسیار دقیقی بر روی ساختار هاپلوتیپ کروموزوم 5q31 (که در موقعیت 500kb از این کروموزوم قرار دارد) در جمعیتی از مردم اروپا ارائه دادند. سپس هاپلوتیپ‌هایی که چند الل نامشخص داشتند یا ژنوتیپ تعیین کننده آن‌ها بیش از یک مکان هتروزیگوت داشت را کنار گذاشتند و بقیه هاپلوتیپ‌ها را برای پایگاه داده انتخاب نمودند و از هر کدام از آن‌ها ۱۲ نمونه تهیه کردند. در نهایت، از هر نمونه ٤۰ SNP با پارامترهای مختلف نرخ خطا (۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/٤) و نرخ حفره (۰/۲۵، ۰/۵ و۰/۷۵) ایجاد نمودند.

نتیجه‌گیری کلی

بازسازی هاپلوتیپ یکی از موضوعات مهم در مطالعات ژنتیکی است. هم‌چنین، این موضوع یکی از مسائل مهم محاسباتی در حوزه بیوانفورماتیک است و اخیراً فعالیت‌های گسترده‌ای در این زمینه انجام شده‌است. استخراج هاپلوتیپ‌ها و تعیین ژنوتیپ یک جایگاه به‌صورت مستقیم از طریق روش‌های زیستی بسیار دشوار و پرهزینه است. بنابراین، استخراج اطلاعات هاپلوتیپ‌ها عمدتا با استفاده از اطلاعات ژنوتیپ و قطعات SNP و با کمک روش‌های محاسباتی انجام می‌شود. در مطالعه حاضر، دو الگوریتم بهینه شده برای بازسازی هاپلوتیپ‌ها بر اساس مدل حداقل تصحیح خطا ارائه شد. الگوریتم اول (IKM) حالتی از الگوریتم K-Means است با این تفاوت که در این الگوریتم به‌جای مراکز اولیه تصادفی، مراکز اولیه با شرایط خاصی انتخاب می‌شوند. الگوریتم دوم (IPSOKM) نیز یک الگوریتم ترکیبی بهبود یافته است که از ادغام دو الگوریتم PSO و K-Means بدست آمد. از آنجاکه به‌دست آوردن اطلاعات ژنوتیپ بسیار آسان و کم هزینه است، بنابراین از اطلاعات ژنوتیپ نیز جهت افزایش دقت بازسازی استفاده شد. نتایج نشان داد که الگوریتم‌های جدید پیشنهاد شده (به‌ویژه الگوریتم ترکیبی IPSOKM) دقت بازسازی را به‌خصوص در شرایط وجود خطا و حفره به‌طور چشمگیری افزایش می‌دهند.

سپاسگزاری

مولفین بر خود لازم می دانند از همکاری علمی و فنی شرکت رایان زیست فناوری پارس آوید (www.avidbiotech.com) در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

Alimoti P, Kann V (1997) Hardness of approximation problems on cubic graph. In :Proceedings of third Italian Conference on Algorithms and Complexity (CIAC'97), Italy, Rome, 288-298.

Asgarian E, Moeinzadeh MH, Najafi A, Sharifian S, Habibi J, Mohammadzadeh J (2007) Solving MEC and MEC/GI Problem Models Using Information Fusion and Multiple Classifiers. In: Proceedings of 4th IEEE International Conference on Innovations in Information Technology (Innovations'07). United Arab Emirates, Dubai, 397-401.

Bafna V, Halldorsson B, Schwartz R (2003) Haplotypes and informative SNP selection algorithms: don't block out information, In: Proceedings of The Seventh Annual International Conference on Research in Computational Molecular Biology (RECOMB). USA, New York, 19-27.

Bafna V, Istrail S, Lancia G, Rizzi R (2005) Polynomial and APX-hard cases of the individual haplotyping problem. Theoretical Computer Science 335:109-125.

Bonizzoni P, Vedova GD, Dondi R, Li J (2003) The haplotyping problem: an overview of computational models and solutions. Journal of Computer Science and Technology 18:675-688.

Chakravarti A (1998) It's raining, hallelujah? Nature Genetics 19:216-217.

Cilibrasi R, Iersel LV, Kelk S, Tromp J (2005) On the complexity of several haplotypeing problems. In: Proceedings of 5th International Workshop on Algorithms in Bioinformatics (WABI). Spain, Mallorca, 128-139.

Clark AG (1990) Inference of haplotypes from PCR-amplified samples of diploid populations, Molecular Biology and Evolution 7:111-122.

Daly MJ, Rioux JD, Schaffner SF (2001) High-resolution Haplotype structure in the Human genome. Nature Genetics 29:229-232.

Gusfield D (2001) Inference of haplotypes from samples of diploid populations: Complexity and algorithms. Journal of Computational Biology 8:305-323.

Gusfield D (2003) Haplotyping by pure parsimony. In: Proceedings of the 14th Symposium on Combinatorial Pattern Matching (CPM). Mexico, Morelia, 144-155.

Huffner F (2005) Algorithm engineering for optimal graph bipartization. In: Proceedings of the 4th International Workshop of Efficient and Experimental Algorithms (WEA). Greece, Santorini Island, 240-252.

Kennedy J, Eberhart R (1995) Particle swarm optimization. In: Proceedings of IEEE International Conference on Neural Networks 4:1942-1948.

Lancia G, Bafna V, Istrail S (2001) SNP problems complexity and algorithms. In: auf der Heide FM (Ed.), Algorithms-ESA. Springer, Berlin, 182-193.

Moeinzadeh MH, Asgarian E, Najafi-Ardabili A, Sharifian-R S, Sheikhaei MS, Mohammadzadeh J (2007) Three Heuristic Clustering Methods for Haplotype Reconstruction Problem with Genotype Information. In: Proceedings of 4th IEEE International Conference on Innovations in Information Technology (Innovations'07). United Arab Emirates, Dubai, 402-406.

Patil N, Berno AJ, Hinds DA (2001) Blocks of limited haplotype diversity revealed by high-resolution scanning of human chromosome 21. Science 294:1719-1723.

Qian W., Yang Y, Yang N, Li C (2008) Particle swarm optimization for SNP haplotype reconstruction problem. Applied Mathematics and Computation 196:266-272.

Reed B, Smith K, Vetta A (2004) Finding odd cycle transversals. Operations Research Letters 32:299-301.

Rieder MJ, Taylor SL, Clark AG, Nickerson DA (1999) Sequence variation in the human angiotensin converting enzyme. Nature Genetics 22:59-62.

VanRaden PM, Olson KM, Null DJ, Hutchison JL (2011) Harmful recessive effects on fertility detected by absence of homozygous haplotypes. Journal of Dairy Science 94:6153-6161.

Wang K, Huang L, Zhou CG, Pang W (2003) Particle swarm optimization for traveling salesman problem. In: Proceedings of the Second International Conference on Machine Learning and Cybernetics. China, Xi'an, 1583-1585.

Wang Y, Feng E, Wang R (2007) A clustering algorithm based on two distance functions for MEC model. Computational Biology and Chemistry 31:148-150.

Zhang XS, W.ang RS, Wu LY, Zhang W (2006) Minimum Conflict Individual Haplotyping from SNP Fragments and Related Genotype. Evolutionary Bioinformatics Online 2:261-270.

Zhang Y, Rajapakse J (2009) Machine Learning in bioinformatics. John Wily and Sons, New Jersey, USA, 462.

Zhao Y, Xu Y, Zhang Q, Chen G (2007) An overview of the haplotype problems and algorithms. Frontiers of Computer Science in China 1:272-282.

Zhao YY, Wu LY, Zhang JH, Wang RS, Zhang XS (2005) Haplotype assembly from aligned weighted SNP fragments. Computational Biology and Chemistry 29:281-287.